PITTIERIA 28-1998, 39-45

PROPAGACIÓN CLONAL DE SOLANACEAS

Idel Contreras G.[1], María Vielma[2] y José Suniaga[3]
Universidad de Los Andes, [1]Laboratorio de Cultivos **in vitro**, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, [2]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, [3]Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), Mérida-Venezuela

Resumen

Fueron propagadas in vitro plantas de Capsicum sp. (pimentón rojo),***Lycopersicon esculentum*** (tomate) y ***Solanum melongena*** (berenjena), todas pertenecientes a la familia Solanaceae. Para esto fueron cultivados explantes de diferentes partes de las plantas, tanto jóvenes como adultas. Para propagar el pimentón se usaron yemas axilares de plantas en estado vegetativo y de igual manera se procedió con el tomate. De la berenjena fueron usados los hipocotilos de plántulas germinadas asépticamente in vitro. En todos los casos se usó el medio básico de Murashige y Skoog (MS) con vitaminas MS, Sacarosa 30 g/l y Difco-Bacto Agar (DBA) 1,3% para solidificar el medio. Los reguladores del crecimiento usados a concentraciones y combinaciones variadas fueron: BA (bencil-adenina) y ANA (ácido naftalénacético). Se obtuvo proliferación de yemas adventicias en pimentón, en medios con BA a 0,50 y 1,0 mg/1; las cuales enraizaron cuando se añadió al medio de cultivo ANA a 0,1 mg/l. Las yemas de tomate no proliferaron en ningún caso y los hipocotilos de berenjena regeneraron vástagos cuando se añadió al medio de cultivo BA (0,25 mg/l) y ANA (0,1 mg/l), los cuales pudieron ser enraizados en medio básico MS/2 con ANA entre 0,05 y 0,10 mg/1. Todas las plantas obtenidas después de ser aclimatizadas fueron transferidas a condiciones de invernadero, obteniéndose entre 80 y 90 % de sobreviviencia y buen crecimiento.

Abstract

Red pepper (Capsicum sp.), tomato (***Lycopersicon esculentum***), and eggplant (***Solanum melongena***) were cultured in vitro. In this order, different kind of explants from young and adult plants were used. Murashige and Skoog (MS) medium was used for all of them, adding MS vitamins, sucrose (30 g/l), and agar (Difco-Bacto-

Agar) 1,3 %. Plant growth regulators: BA (bencil-adenine) and NAA (naftalen acetic acid) were used at different concentrations and combinations. When BA (0,5-1,0 mg/l) was used adventitious buds from red pepper were obtained. Rooting was induced on MS medium and NAA (0,1 mg/l). Cultures of tomato axillary buds did not proliferate and eggplant hypocotyls regenerated shoots when BA (0,25 mg/l) and NAA (0,1 mg/l) were added to the medium. They were rooted on MS half strenght and NAA (0,05 - 0,1 mg/l). Products of the assays were acclimatized and transferred to the greenhouse. Between 80 – 90 % of them survived and grew well.

Introducción

Dentro de las solanáceas se encuentran plantas de gran importancia agronómica porque sus frutos forman parte de la alimentación del hombre a nivel mundial. Tanto el pimentón, como el tomate y la berenjena son plantas de cosecha muy apreciadas, razón por la cual es deseable establecer sistemas masivos de propagación que pudieran ser suministrados a los agricultores que laboran con estos rubros. La propagación por métodos in vitro ha sido reportada por diferentes autores. Se ha obtenido multiplicación clonal del pimentón (Christopher y Rajam, 1974), del tomate (Gresshoff y Doy 1972), Behki y Lesley 1979) y de la berenjena (Matsvoka y Hinata 1979).

En este trabajo se pretende aplicar las metodologías idóneas que conlleven a la obtención masiva de plantas de las especies mencionadas.

Materiales y Métodos

Se usaron explantes de plantas jóvenes de pimentón germinadas in vitro y crecidas en invernadero. Se decapitó la yema principal para estimular el desarrollo de las yemas axilares, las cuales se cultivaron previo tratamiento de esterilización superficial, en medio MS

que contenía BA: (0,1 – 1,0 mg/l. Se incubó a 26 (2° C, 1200 lux y fotoperíodo de 16 horas luz. Una vez que ocurrió la proliferación de yemas se individualizaron y se cultivaron en MS/2 carente de hormonas o con ANA (0,10 – 1,0 mg/l) como agente inductor del enraizamiento. Este mismo procedimiento fue aplicado a las yemas axilares de tomate cuyas plantas germinaron y crecieron en condiciones de invernadero. Los explantes de berenjena fueron hipocotilos que provenían de plántulas germinadas in vitro. Se colocaron a razón de 2 por tubo y se mantuvieron en oscuridad contínua a igual temperatura que los otros cultivos. Los vástagos que se generaron de novo del extremo apical del hipocotilo fueron escindidos y transferidos a MS/2 sin auxina o con ANA (0,01 – 0,1 mg/l). Una vez que ocurrió el alargamiento y el enraizamiento, estas plantas fueron transferidas a recipientes con sustrato estéril (vermiculita) para su aclimatación y trasvase posterior a bolsas con tierra negra no estéril y fueron llevadas, al igual que las plantas de pimentón, al invernadero.

Después de dos semanas fueron trasladadas a la Escuela Técnica Agropecuaria El Estanquillo (San Juan, Lagunillas) para su siembra definitiva en el suelo.

Resultados y Discusión

Proliferación de yemas adventicias o de vástago y enraizamiento.

a. Las yemas axilares de pimentón cultivadas en MS con BA a concentraciones diversas respondieron de manera parecida en aquellas concentraciones de BA (0,50, 0,75 y 1,0 mg/l). En este sentido se originaron entre 8 y 12 yemas por explante, las cuales emergieron de la base de la yema y sus alrededores. Estas yemas adventicias se alargaron cuando fueron individualizadas y subcultivadas en MS/2 con o sin ANA a objeto de inducir su enraizamiento. Este ocurrió a partir de los 10 días de establecido el cultivo, en ambos medios, pero el mayor porcentaje, 80 %,

fue obtenido en aquel con ANA 0,1 mg/l. Resultados similares fueron encontrados por Christopher y Rajam, (1994) cuando cultivaron ápices del vástago de Capsicum spp, en MS con BA y ácido tri-yodo benzoico (ATIB), incrementándose el número de vástagos cuando combinaban BA con kinetina (K). Encontraron además, que el enraizamiento (80-100 %) se logró con ATIB y BA.

Las plantas aquí obtenidas fueron observadas durante su desarrollo vegetativo sin que mostraran rasgos fenotípicos anormales, como era de esperar dada su proliferación directa.

b. La multiplicación de yemas de tomate se ensayó en los medios con los reguladores mencionados, solos o en combinación, pero no se observó proliferación debido a la presencia de una bacteria endógena, la cual no pudo ser controlada cuando se usó Cloranfenicol (100-200 mg/l) y Ampicilina (150-250 mg/l). Prevenir o evitar la contaminación bacteriana en cultivos in vitro es la clave para una micropropagación exitosa. Estos agentes patógenos, epifíticos o endofíticos, pueden causar grandes pérdidas in vitro en cualquier etapa de su desarrollo (Cassells, 1991; Leifert et al. 1991). La presencia de la mencionada bacteria conllevó a germinar semillas asépticamente y a establecer cultivos de segmentos nodales de plantas juveniles, sin embargo, la bacteria continuó presente. Sólo cuando se usó como explante primordios foliares, estos calificaron y posteriormente generaron brotes que se diferenciaron como vástagos, sin embargo, no fueron tomados en cuenta, por su lento alargamiento y por haber permanecido más de 10 meses en presencia de agentes químicos inductores del proceso, lo cual pudo haber afectado su complemento genético.

c. Los hipocotilos de berenjena obtenidos de semillas germinadas asépticamente, fueron organogénicos. Múltiples yemas surgieron de la porción apical de cada hipocotilo cultivado con BA y ANA en combinación; 0,25 y 0,1 mg/l respectivamente y man-

tenidos en oscuridad completa. Fue necesario transferir a medio libre de agentes reguladores del crecimiento para que ocurriera el alargamiento de las yemas. El enraizamiento se logró con ANA 0,1 mg/l y las etapas posteriores de aclimatización y transferencia al invernadero ocurrieron de manera similar a los casos ya mencionados.

Matsuoka y Hinata (1979), obtuvieron organogénesis y embriogénesis en berenjena, a partir de callos de hipocotilo en medio MS suplementado con ANA y BA a concentraciones variadas.

Las plantas de berenjena obtenidas por esta metodología florecieron y fructificaron en condiciones de invernadero, produjeron frutos similares en forma y tamaño a los que provienen de plantas obtenidas por semillas.

Los resultados para las tres especies pueden resumirse según la siguiente tabla:

Cuadro 1. Efectos de la bencil-adenina (BA) y el ácido naftalén-acético (ANA) sobre la proliferación de yemas o vástagos.

ESPECIE	BA mg/1	ANA mg/1	Yemas	Vástagos
Pimentón	0,00	0,00	—	-
	0.50	-	+	-
	0,75	-	+	-
	1,00	-	+	
Tomate	0,00	0,00	—	-
	0,50	0,10	—	+
Berenjena	0,00	0,00	—	-
	0,25	0,10	—	+

La inducción del enraizamiento se resume en el Cuadro 2:

Cuadro 2. Efectos del ácido naftalén-acético sobre la inducción del enraizamiento en las yemas y vástagos de pimentón y berenjena.

ESPECIE	ANA mg/1	Raíces
Pimentón	0,00	+
	0,10	++
	0,00	—
Berenjena	0,05	+
	0,10	+

Agradecimiento

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de Los Andes, por el financiamiento otorgado bajo el Código FO-279-92-A.

Bibliografía

Behki, RM. y SM. Lesley. 1979. Shoot regeneration from leaf callus of ***Lycopersicon esculentum*** Z. Pflanzen. 98: 83-87.

Cassells, AC. 1991. Problems in tissue culture: Culture contamination. En: Micropropagation Technology and Application. P.C. Debergh y RH. Zimmerman, eds. Kluwer Academic Publish. Dordrecht. Neeth. Pp 31-34.

Christopher, T. y MV. Rajam. 1994. In vitro plant clonal propagation of Capsicum spp. Plant Cell Tiss. and Org. Cult. 38: 25-29.

Gresshoff, PM. y CH. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid ***Lycopersicon esculentum*** (tomato). Planta 107: 161-170.

Gunay AL. y PS. Rao. 1978. In vitro plant regeneration from hypocotyl explants of red pepper (***Capsicum***). Plant Sci. Lett. 11: 365-372.

Leifert, C.; H. Camotta; SM. Wright; B. Waites; VA. Cheyne y WM. Waites. 1991. Elimination of ***Lactobacillus plantarum***, ***Corynebacterium*** spp, ***Staphylococcus saprophyticus*** y ***Speudomonas pancimobilis*** from micropropagaated *Hemerocallis*, *Choisya* y *Delphinium* cultures using antibiotics. J. Appl. Bact. 71: 307-330.

Matsuoka, H. y K. Hinata. 1979. NAA – Induced organogenesis and embryogenesis in hypocotyl callus of ***Solanum melongen***. J. Exp. Bot. 116: 363-370.

Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco. tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-479.